

? S PN=JP 58128318  
S18 1 PN=JP 58128318  
? T S18/7

18/7/1

DIALOG(R) File 351:Derwent WPI  
(c) 2005 Thomson Derwent. All rts. reserv.

003734127

WPI Acc No: 1983-730325/198332

**Compsn. of liposomes and sodium cromoglycate - useful as prolonged action  
antiallergic agent on inhalation admin.**

Patent Assignee: FISON PLC (FISO )

Inventor: AHMED M; AUGSTEIN J

Number of Countries: 013 Number of Patents: 007

Patent Family:

Patent No	Kind	Date	Applicat No	Kind	Date	Week
EP 84898	A	19830803	EP 83200047	A	19830113	198332 B
→ JP 58128318	A	19830730				198336
EP 84898	B	19860903				198636
DE 3365744	G	19861009				198642
US 4804678	A	19890214	US 87105508	A	19871005	198909
→ US 4917897	A	19900417	US 89308196	A	19890208	199020
JP 91080773	B	19911226	JP 837487	A	19830121	199205

Priority Applications (No Type Date): GB 8220762 A 19820717; GB 821883 A  
19820122; GB 821833 A 19820122

Cited Patents: No-SR.Pub; 2.Jnl.Ref; US 4168308

Patent Details:

Patent No Kind Lan Pg Main IPC Filing Notes

EP 84898 A E 20

Designated States (Regional): AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

EP 84898 B E

Designated States (Regional): AT BE CH DE FR GB IT LI LU NL SE

Abstract (Basic): EP 84898 A

(A) Pharm. compsn. comprises liposomes and sodium cromoglycate (I).  
(B) Aq. suspn. comprises (I) partitioned between a free aq. phase and a  
liposome phase. (C) Aq. suspn. comprises a total concn. of 0.1-20  
mg/ml. (I) partitioned between an aq. phase and a liposome phase  
comprising di(tetradecanoyl)-, di(hexadecanoyl)- or  
di(octadecanoyl)-phosphatidylcholine dispersed in the aq.phase at 1-30  
mg/ml. There is 2-35 wt.% of (I) associated with the liposomes.

The liposomes contg. (I) are administered directly into the site of  
an allergic condition, e.g. the lung, when an increased level of  
retention of (I) at the site is achieved and the duration of action is  
prolonged. Conditions such as asthma, hay fever and vernal kerato  
conjunctivitis, are treated in this way. Dose is 0.1-20 mg. (I)  
liposomes for inhalation treatment of asthma.

0/0

Derwent Class: B05; C03; P34

International Patent Class (Additional): A61K-009/50; A61K-031/35;

A61R-037/22; C07D-311/24

BEST AVAILABLE COPY

⑨ 日本国特許庁 (JP)

⑩ 特許出願公開

⑫ 公開特許公報 (A)

昭58—128318

⑤ Int. Cl.<sup>3</sup>  
A 61 K 31/35  
# C 07 D 311/24

識別記号  
A B F

庁内整理番号  
6408—4C  
7169—4C

⑬ 公開 昭和58年(1983) 7月30日

発明の数 1  
審査請求 未請求

(全 7 頁)

⑭ 薬学的組成物

⑯ 特 願 昭58—7487  
⑰ 出 願 昭58(1983) 1月21日  
優先権主張 ⑱ 1982年 1月22日 ⑲ イギリス  
(G B) ⑳ 8201883  
㉑ 1982年 7月17日 ㉒ イギリス  
(G B) ㉓ 8220762  
⑳ 発 明 者 ジョアキム・オーグスタイン  
イギリス国レスターシャー州ロ  
クバロウ・ウッドハウスイーヴ  
ズ・チャーリイロード・アルダ

ーマンハウファーム (番地な  
し)

㉔ 発 明 者 マクブール・アーメド  
イギリス国レスターシャー州ロ  
クバロウ・パースビッドライブ  
71  
㉕ 出 願 人 ファイソonz・ピーエルシー  
イギリス国イプスウィッチ・プ  
リンセスストリート・ファイソ  
ンハウス (番地なし)  
㉖ 代 理 人 弁理士 山下白

明 細 書

1. 発明の名称 薬学的組成物

2. 特許請求の範囲

- 1) リボソームおよびナトリウムクロモグリケートからなる薬学的組成物。
- 2) 遊離の水相およびリボソーム相の間に分配されたナトリウムクロモグリケートからなる水性懸濁液の形である前記特許請求の範囲第1項記載の組成物。
- 3) リボソームが100 nm~10 μm の直径を有する前記特許請求の範囲第1または第2項記載の組成物。
- 4) リボソームが1種またはそれ以上の天然または合成レシチンからなる前記特許請求の範囲第1~3項のいずれか一つに記載の組成物。
- 5) レシチンまたはレシチン混合物が35~45℃の相転移温度を有する前記特許請求の範囲第

4項記載の組成物。

- 6) リボソームがコレステロール、コレステリルステアレートおよび負または正に荷電した成分から選ばれた1種またはそれ以上の付加的成分を含有する前記特許請求の範囲第4項または5項に記載の組成物。
- 7) ナトリウムクロモグリケート対脂質の重量比が0.01~100である前記特許請求の範囲第1~6項のいずれか一つに記載の組成物。
- 8) ナトリウムクロモグリケートの総濃度が0.01~50 mg/ml である前記特許請求の範囲第2~7項のいずれか一つに記載の水性懸濁液。
- 9) リボソームと会合したナトリウムクロモグリケートの百分率が2~35 % w/w である前記特許請求の範囲第1~8項のいずれか一つに記載の組成物。
- 10) 脂質の薄膜をナトリウムクロモグリケートの水溶液中に分散させておこなる、前記

特許請求の範囲第1または2項に記載の薬学的組成物。

11) レシチン類たるジ(テトラデカノイル)ホスファチジルコリン、ジ(ヘキサデカノイル)ホスファチジルコリンまたはジ(オクタデカノイル)ホスファチジルコリンの1種またはそれ以上からなるリボソーム相と水相との間に分配された総濃度0.1~20mg/mlのナトリウムクロモグリケートからなり、水相中に分散されたレシチン濃度が1~30mg/mlでありそしてリボソームと会合したナトリウムクロモグリケートの百分率が2~35%w/wである水性懸濁液である前記特許請求の範囲第1項記載の組成物。

### 3. 発明の詳細な説明

本発明は薬学的組成物に関するものでありそして特に吸入用物質の製剤に関する。

- 3 -

トリウムクロモグリケートを含有する選択された水性媒体に分散せしめる。しかしながら通常の実施とは逆に、かくして調製されたリボソームを超音波処理しないことが好ましい。何故ならばこのような処理はリボソームの寸法を小さくするからである。本発明方法により調製されたリボソームは通常ある範囲の寸法をしていよう。本発明のリボソームは直径100nm~10μmを有するのが好ましく、より好ましくは直径1μm~7μmを有する。例えば、5000nmまでの直径を有するリボソームは容易に食作用されうることが知られている。リボソームを分別して100nm以下好ましくは1μm以下の直径を有するものを実質上すべて除去するのが好ましい。分別は好都合には例えば交叉結合デキストランまたはアガロースを使用してカラムゲルクロマトグラフィーにより遂行でき、ゲルの寸法は所望され

- 5 -

ナトリウムクロモグリケートはアレルギー症状例えば喘息、枯草熱および春季角膜炎の治療に多年知られている。しかしながらこれはその作用持続が比較的短いという欠点がある。

本発明によれば、リボソームおよびナトリウムクロモグリケートからなる薬学的組成物が提供される。

本発明のリボソームを直接アレルギー状態の場所例えば肺に投与することにより、その場所でのナトリウムクロモグリケート保有レベルを増大させることが可能であり、それにより作用期間の増大が達成される。

本発明によるリボソーム調製の最初の段階は好都合には当業上記載された操作に従う。すなわち脂質出発物質を溶媒例えばエタノールまたはクロロホルム中に溶解させ、これを次に蒸発させる。次に得られた脂質層を適当な濃度のナ

- 4 -

トリウムクロモグリケートを含有する選択された水性媒体に分散せしめる。しかしながら通常の実施とは逆に、かくして調製されたリボソームを超音波処理しないことが好ましい。何故ならばこのような処理はリボソームの寸法を小さくするからである。本発明方法により調製されたリボソームは通常ある範囲の寸法をしていよう。本発明のリボソームは直径100nm~10μmを有するのが好ましく、より好ましくは直径1μm~7μmを有する。例えば、5000nmまでの直径を有するリボソームは容易に食作用されうることが知られている。リボソームを分別して100nm以下好ましくは1μm以下の直径を有するものを実質上すべて除去するのが好ましい。分別は好都合には例えば交叉結合デキストランまたはアガロースを使用してカラムゲルクロマトグラフィーにより遂行でき、ゲルの寸法は所望され

るリボソーム寸法に従つて選択される。あるいはまた、リボソームは超遠心分離を用いるかまたは例えばポリカーボネート膜透過を用いる透析により分別されうる。

広い種類の脂質物質が天然レシチン例えば卵および大豆に由来するもの、および合成レシチンを包含するリボソームを形成させるのに使用されうる。非免疫原性でありそして生物体により分解されうる脂質が好ましい。脂質の性質、例えばその相転移温度は標的である器官中へのリボソームの保有ならびに吸収に対して顕著な影響を及ぼしうるので、その理由から充分に規定された合成レシチンの方が天然レシチンより好ましい。使用されうる合成レシチンをそれらの各相転移温度と共にあげれば、ジ(テトラデカノイル)ホスファチジルコリン(以下「DTPC」と略記する)(23℃)、ジ(ヘキサデカノイ

- 6 -

ル)ホスファチジルコリン(以下「DHPC」と略記する)(41℃)およびジ(オクタデカノイル)ホスファチジルコリン(以下「DOPC」と略記する)(55℃)である。ジ(ヘキサデカノイル)ホスファチジルコリンを単独のレシテンとしてかまたは場合によりジ(オクタデカノイル)またはジ(テトラデカノイル)化合物の少量と一緒に主要量のレシテンとして使用するのが好ましい。使用されうる他の合成レシテンは不飽和合成レシテン、例えばジ(オレイル)ホスファチジルコリンおよびジ(リノレイル)ホスファチジルコリンである。合成レシテン、または脂質混合物が35~45℃の範囲の相転移温度を有するのが好ましい。通常脂質である主要なリボソーム形成性脂質または脂質類に加え、リボソーム膜の構造を修正してそれを主要なリボソーム形成性脂質または脂質類の性質に応じてより

- 7 -

合のナトリウムクロモグリケートを用いることが好ましい。

リボソーム形成期間中の水相におけるナトリウムクロモグリケート濃度は好ましくは0.01~50mg/mlであり、そしてより好ましくは0.1~20mg/ml、例えば10または20mg/mlである。

水相が周期律表の第IIa、Ib、IIbおよびIVb族および遷移金属の金属イオン、特に $Pb^{++}$ 、 $Ca^{++}$ 、 $Mg^{++}$ 、 $Fe^{++}$ 、 $Fe^{+++}$ および $Zn^{++}$ イオンを20ppm以下の量で含有することが好ましい。

水相は塩化ナトリウムを用いて等張性となされうる。更に加えて、水相は塩化カリウムをも含有しうる。

水相は適当な酸または塩基の添加により、または適当な緩衝剤例えばトリス(ヒドロキシメチル)メタナミン(トリス)の添加によりpH6~8、好ましくはpH6.5~7.5に調整されうる。

- 9 -

流体状またはより剛性となすために他の脂質例えばコレステロールまたはコレステリルステアレートが(例えば総脂質の5~40%w/wの割合で)包含されうる。場合により包含されてもよい第3成分は陰電荷を与える物質例えばホスファチド酸、磷酸ジセチルまたは牛脳ガングリオシドであるか、または陽電荷を与える物質例えばステアリルアミンアセテートまたはセチルピリジニウムクロリドである。荷電した成分は総脂質の1~20%w/wの割合で包含されうる。

使用される脂質および状況の如何に応じてナトリウムクロモグリケート対脂質の広範囲の割合が形成の間に使用されうる。しかしながら、一般にナトリウムクロモグリケート1重量部対脂質0.01~100好ましくは0.05~20重量部、最も好ましくは0.1~10重量部の範囲が適当であることが判明した。使用可能なかぎり高い割

- 8 -

水相中に分散される脂質の濃度は好ましくは0.1~150mg/ml、より好ましくは0.5~50mg/mlそして最も好ましくは1~30mg/mlである。

リボソーム製剤が37℃で約12~48時間好ましくは12~24時間の半減期(流出速度)を有することが好ましい。半減期は慣用の方法、例えば希釈法により計測されうる。製剤の半減期はそのリボソームをつくるのに使用される種々の脂質の割合を変えることにより変動される。

本発明の組成物はナトリウムクロモグリケート-リボソームの噴霧化された水性懸濁液を肺に注入することにより喘息の治療に使用される。本発明の組成物はアレルギー性の眼の状態、例えば春季角膜結膜炎、枯草熱の眼の症候および/または周縁浸潤の治療において点眼剤として使用されうる。

- 10 -

この組成物はまた胃腸管疾患例えば潰瘍性大腸炎および食品アレルギーの治療に食道投与により使用されうる。本発明の組成物を混入する浣腸は特にアレルギー起因の腸疾患の治療に使用されうる。本発明の組成物はまた例えば鼻スプレーとして鼻に投与することにより枯草熱の治療に、そして皮膚状態、例えば哺乳類特に人間の慢性皮膚病の治療にも使用されうる。治療されうる皮膚病には皮膚乳房細胞および／または抗体抗原反応を含む皮膚病、および湿疹、藥物発疹、乾癬、皮膚炎、ヘルペス状天疱瘡および慢性皮膚潰瘍が包含される。

前記のように調製された組成物はナトリウムクロモグリケートが遊離の水相およびリボソーム相の間に分配されたリボソームの水性懸濁液である。

これら水性製剤は、水相がナトリウムクロモ

- 11 -

常法例えば遠心分離により測定されうる。

あるいはまた、水相とリボソーム相との間に分配されたナトリウムクロモグリケートの水性懸濁液は例えば遠心分離、限外濾過または透析により凝縮されてリボソームゲルを生じうる。このゲルはいくつかの方法で使用されうる。例えばこれは軟骨基剤中に混入され、場合によりナトリウムクロモグリケートを含有してもよい水または等張性の緩衝食塩溶液中に再懸濁されうる。かかる製剤はリボソームゲル、および適当な付形剤から使用直前に調製されうる。

与えられる薬用量は使用される個々の組成、処置される症状およびその重篤さに応じて変動しよう。これら状態の治療においては有効量のナトリウムクロモグリケートリボソームを使用することが好ましい(例えば喘息の吸入処置には0.1~2.0mg)。

- 13 -

グリケートの最初の「下塗り」量を付与できそしてリボソーム相がナトリウムクロモグリケートの維持量を付与するという点で有用で且つ予想されざる性質を有することを見出した。このことはナトリウムクロモグリケートの作用期間を増大させる効果を有する。

それゆえに本発明によれば、遊離の水相およびリボソーム相の間に分配されたナトリウムクロモグリケートからなる水性懸濁液が提供される。

水性懸濁液中のナトリウムクロモグリケートの総濃度が0.01~5.0mg/ml、好ましくは0.1~2.0mg/mlであることが好ましい。

リボソームと会合されたナトリウムクロモグリケートの百分率が2~35%w/w、例えば4~20%であることが好ましい。リボソームと会合されたナトリウムクロモグリケートの百分率は

- 12 -

以下の例により本発明を説明するが、本発明はそれらに限定されるものではない。

リボソーム含有ナトリウムクロモグリケートの一般的調製

所望量(例えば2.0mg)の適当な磷脂質または磷脂質混合物(例えば卵レシチン、DTPC、DHPCまたはDOPC)を、所望ならば任意の他の脂質可溶性成分(例えばコレステロール、コレステリルステアレート)と共に丸底フラスコ中に秤量して入れる。脂質成分を少量(約5ml)の適当な溶媒(例えばエタノール)中に溶解させ、そして回転膜蒸発器を用いて減圧下に蒸発乾固させてフラスコの内部表面上に磷脂質の薄膜を得る。

適当な濃度(例えば1mg/ml)のナトリウムクロモグリケート水溶液は水性媒体(例えば0.9%w/v食塩溶液、緩衝溶液等)2.0ml中に秤量

- 14 -

した脂のナトリウムクロモグリケートを溶解させ、そして所望の場合は得られた溶液のpHを調節することにより調製される。ナトリウムクロモグリケートの水溶液を脂質（類）の相転移温度より20℃以上まで加温し、フラスコ中の脂質膜に加え、そしてこのフラスコをすべての脂質膜が分散するまで絶やかに振盪する。得られる懸濁液は200nm～10μmの寸法をしたリボソームを含有する。

この懸濁液を37℃で48時間平衡化させた。

これら懸濁液は遊離の水相とリボソーム相との間に分配したナトリウムクロモグリケートを含有する。

24時間後にはこの懸濁液は大部分の場合分離してきてコロイド状の白色沈殿を形成し、これは振盪すると容易に再分散される。

- 15 -

ナトリウムクロモグリケート	200 mg
0.9% w/v 食塩溶液	20 ml
7. DTPC	400 mg
ナトリウムクロモグリケート	200 mg
0.9% w/v 食塩溶液	20 ml
8. DHPC	200 mg
ナトリウムクロモグリケート	200 mg
0.9% w/v 食塩溶液	20 ml
9. DOPC	200 mg
ナトリウムクロモグリケート	200 mg
脱ミネラル水	20 ml
10. DTPC	133 mg
コレステリルステアレート	67 mg
ナトリウムクロモグリケート	200 mg
脱ミネラル水	20 ml
11. DHPC	133 mg
コレステリルステアレート	67 mg
ナトリウムクロモグリケート	200 mg
脱ミネラル水	20 ml

- 17 -

下記に例示されるナトリウムクロモグリケートリボソーム組成物は前記した一般操作を用いて調製された。

1. 卵レシチン	20 mg
ナトリウムクロモグリケート	200 mg
脱ミネラル水	20 ml
2. 卵レシチン	20 mg
ナトリウムクロモグリケート	20 mg
脱ミネラル水	20 ml
3. DTPC	20 mg
ナトリウムクロモグリケート	20 mg
0.9% w/v 食塩溶液	20 ml
4. DTPC	20 mg
ナトリウムクロモグリケート	20 mg
0.9% w/v 食塩溶液	20 ml
5. DTPC	20 mg
ナトリウムクロモグリケート	200 mg
0.9% w/v 食塩溶液	20 ml
6. DTPC	200 mg

- 16 -

12. DHPC	133 mg
コレステロール	67 mg
ナトリウムクロモグリケート	200 mg
脱ミネラル水	20 ml
13. DHPC	20 mg
ナトリウムクロモグリケート	200 mg
0.9% w/v 食塩溶液	20 ml
14. DHPC	75 mg
ナトリウムクロモグリケート	102.5 mg
水中の塩化カリウム(150mM) および pH7.4 のトリス緩衝液 (10mM)	10 ml
15. DHPC	70 mg
DTPC	30 mg
ナトリウムクロモグリケート	100 mg
0.9% w/v 食塩溶液	10 ml
16. DHPC	180 mg
ナトリウムクロモグリケート	200 mg
セチルビリジニウムクロライド	20 mg
0.9% w/v 食塩溶液	200 ml

- 18 -

リボソームと会合したナトリウムクロモグリケートの測定

平衡化されたナトリウムクロモグリケートリボソーム分散物を70,000 Gで1時間遠心分離する。上澄み液の1部分を紫外線分光光度計で326nmにおいて分析して遊離のナトリウムクロモグリケート濃度を測定する。

リボソームと会合したナトリウムクロモグリケートの量を下記関係式から測定する。

リボソームと会合したナトリウムクロモグリケート (クロモグリケート) の量 =

$$\frac{[\text{総クロモグリケート}] - [\text{上澄み液中のクロモグリケート}]}{[\text{総クロモグリケート}]} \times 100$$

下記会合率が測定された。

例 5 4.5 % w/w

例 13 8.23 % w/w

例 14 14.00 % w/w

- 19 -

「Biochemical Pharmacology」第29巻第2361～2365頁(1980年)に記載された希釈法を用いても測定されうる。

流量および透過係数の測定

〔膜の調製〕

雌雄いずれかの10～12週令の白色無毛マウスを頸部をひねって殺しそして背面の皮膚を最小限の処理で取り出した。個々の球として視認しうる皮下脂肪を除去した。この皮膚試料を使用前に何らかの損傷の徴候がないか検査した。拡散セルについて皮膚試料1個を使用しそして表面側を上にして拡散セルの上方部分の開口部上に密着させて「O」リングで固定した。過剰の皮膚はセルを組み立てる前に削り落とした。

〔拡散セルの集成〕

膜を固定した後上方部分の「O」リングにシリコーングリース少量を適用した。次に上方部

- 21 -

リボソームからのナトリウムクロモグリケート放出速度およびリボソーム半減期

リボソームからのナトリウムクロモグリケート放出速度はナトリウムクロモグリケートリボソームを前記のように70,000 Gで遠心分離し、上澄み液を捨てそしてpH7.4に緩衝された等張食塩溶液中に再懸濁させることにより測定される。37℃で攪拌した再懸濁したリボソームの1部分を間隔をおいて遠心分離し、そして上澄み液中のナトリウムクロモグリケート濃度を紫外線分光光度計により測定した。リボソームの放出定数kは $\ln$ 〔放出されたクロモグリケート〕対時間をプロットすることにより測定される。

リボソームの半減期 $t_{1/2}$ は次の関係式 $t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k}$ により与えられる。

リボソーム半減期はまたM. Ahmed氏他の

- 20 -

分を下方の房内に正しく位置するまでしつかりと押した。この房を次に予め37℃に平衡化された食塩水で充填した。各セルの容量は皮膚膜が水準に留まるように各個に調整された。充填容量は横腕に印した。

〔実験操作〕

8個の拡散セル1組をサーモスタット制御された37℃の水浴セット中に保持された担体プレート上に据えそして平衡化された。各セルを水中の磁気攪拌器モーター上に位置させそして水レベルを皮膚表面とほぼ同じに調整した。このことは皮膚表面の温度が30℃のままであることを保証した。

研究される予定のビヒクルをマイクロピペットから加えることにより適用した。次に小さなガラス棒を用いて製剤を露出された皮膚表面上に均一に分配した。適用された各量の重量はミク

- 22 -

ロビペットまたは注射器により加えられた少くとも10個の試料を正確に秤量することにより測定された。

ビヒクルの適用に続いて磁気攪拌器のスイッチを入れそして適当な時間間隔をおいて受け容器流体の試料1.0 mlずつを横腕からとり出しそして直ちに予め37℃に平衡化された新たな食塩水で置換した。次にこれらの試料を高性能液体クロマトグラフィー (HPLC) により薬物について分析するまで冷蔵した。

研究される各製剤について少くとも3回反復して拡散セルが使用された。

[ データ処理 ]

薬物が皮膚を移送される間に受動的拡散のみが起ると仮定すると、透過速度はフィックの法則 (Fick's law) により与えられうる。

$$J = P \Delta C$$

- 23 -

ここでJは流量、すなわち単位時間当り単位面積当り拡散する薬物の量、Pは透過係数、 $\Delta C$ は角質層の濃度差である。

特許出願人 ファイソonz・ピーエルシー

代理人 弁理士 山下



- 24 -